

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan Pada Bulan Oktober 2018 hingga Februari 2019 di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan dan Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian di Fakultas Peternakan dan Pertanian, serta Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro.

3.1. Materi Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu yang berasal dari peternakan FPP pada jam 06.00 sebanyak 3 liter, bit merah (*Beta vulgaris* L.) yang dibeli di wilayah Bandungan sebanyak 10 kg, etanol 70%, asam sitrat, susu bubuk *full cream* (Dancow, PT. Nestle Indonesia), Susu UHT *full cream* (Ultramilk, PT. Ultrajaya Milk Industry Tbk), kultur starter yoghurt (Yogourmet, CV. Anta Tirta Kirana) yang terdiri dari bakteri asam laktat *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, dan *Lactobacillus acidophilus*., *Whipping cream* (Pondan, PT. Pondan Pangan Makmur Indonesia), gula tepung, susu kental manis (Frisian Flag, PT. Frisian Flag Indonesia). Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis adalah NaOH 0,1 N, indikator fenolftalein, aquades, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). Alat yang digunakan antara lain timbangan digital, *grinder*, kertas saring, corong, *evaporator*, gelas ukur, inkubator, bunsen, *mixer*, *freezer*, cup plastik, buret, erlenmeyer, gelas beker, thermometer, vortex mixer, spektrofotometer UV-Vis.

3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian meliputi rancangan percobaan, prosedur penelitian, pengujian parameter dan analisis data. Urutan metode tersebut diuraikan sebagai berikut.

3.2.1. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang menerapkan 4 perlakuan dengan 1 kontrol dan 4 kali ulangan. Perlakuan yang diterapkan terdiri dari tanpa pemberian ekstrak bit (T_0) sebagai kontrol, penambahan ekstrak bit 1% (T_1), penambahan ekstrak bit 2% (T_2), penambahan ekstrak bit 3% (T_3), Penambahan ekstrak bit 4% (T_4) dari total bahan yang digunakan.

Hipotesis penelitian ini disusun untuk data total asam, total padatan, *overrun* dan resistensi pelelehan:

H_0 : Tidak ada pengaruh nyata penambahan ekstrak bit yang berbeda terhadap total asam, total padatan, *overrun* dan resistensi pelelehan froyo yang diperkaya dengan ekstrak bit

H_1 : Terdapat pengaruh nyata penambahan ekstrak bit yang berbeda terhadap total asam, total padatan, *overrun* dan resistensi pelelehan froyo yang diperkaya dengan ekstrak bit

3.2.2. Prosedur Penelitian

a) Pembuatan Ekstrak Bit (*Beta vulgaris*)

Pembuatan ekstrak bit menggunakan metode ekstraksi maserasi mengacu pada Novatama *et al.* (2016). Bit dicuci, kemudian dipotong-potong tipis dan dikeringkan dibawah sinar matahari selama 3-5 hari hingga kadar air simplisia kurang dari 8% untuk meminimalisir kontaminasi jamur. Setelah kering bit dihaluskan hingga terbentuk serbuk. Serbuk simplisia bit direndam dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:10 kemudian ditambah asam sitrat sebanyak 1% dari total pelarut, simplisia direndam selama 3 hari. Setelah 3 hari, maserat disaring menggunakan kertas saring. Total maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *evaporator*. Proses pengaplikasian ekstrak dilakukan dengan melarutkan 20 g ekstrak ke dalam 20 ml aquadest sehingga diperoleh konsentrasi larutan ekstrak 1 g/ml. Diagram alir proses pembuatan ekstrak bit dapat dilihat pada Ilustrasi 1.

b) Pembuatan Yoghurt

Pembuatan yoghurt diawali dengan proses pembuatan starter. Prosedur pembuatan starter mengacu pada metode Purbasari *et al.* (2018) yang telah dimodifikasi. Bibit yogourmet sebanyak 2 g dimasukkan ke dalam susu UHT *full cream* sebanyak 200 ml secara aseptis. Kemudian diinkubasi dengan inkubator dengan suhu 43°C selama 8 jam sehingga diperoleh starter F1. starter dibiakkan kembali dengan cara 20 ml starter F1 dimasukkan ke dalam 200 ml susu UHT *full*

cream, kemudian di inkubasi kembali sehingga diperoleh starter F2. Starter F2 inilah yang akan digunakan untuk penelitian.

Pembuatan set yoghurt mengacu pada metode yang dilakukan oleh Handayani dan Wulandari (2016) yang telah dimodifikasi. Susu sebanyak 2500 ml ditambah dengan 10% susu bubuk *full cream* kemudian diaduk dan dipasteurisasi hingga suhu 80°C selama 30 detik. Suhu susu diturunkan hingga suhu 43°C kemudian diinokulasi dengan starter yoghurt sebanyak 5%, dan diinkubasi pada suhu 43°C selama 6 jam didalam inkubator.

c) Pembuatan *Frozen Yoghurt*

Pembuatan *frozen yoghurt* mengacu pada metode Andriana (2018) yang telah dimodifikasi. Terdapat 3 tahap utama dalam pembuatan *frozen yoghurt* yaitu homogenisasi, *aging*, dan pembekuan. Formulasi *frozen yoghurt* dengan kadar lemak 3,82% yang diperkaya dengan ekstrak bit dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Formulasi *Frozen Yoghurt*

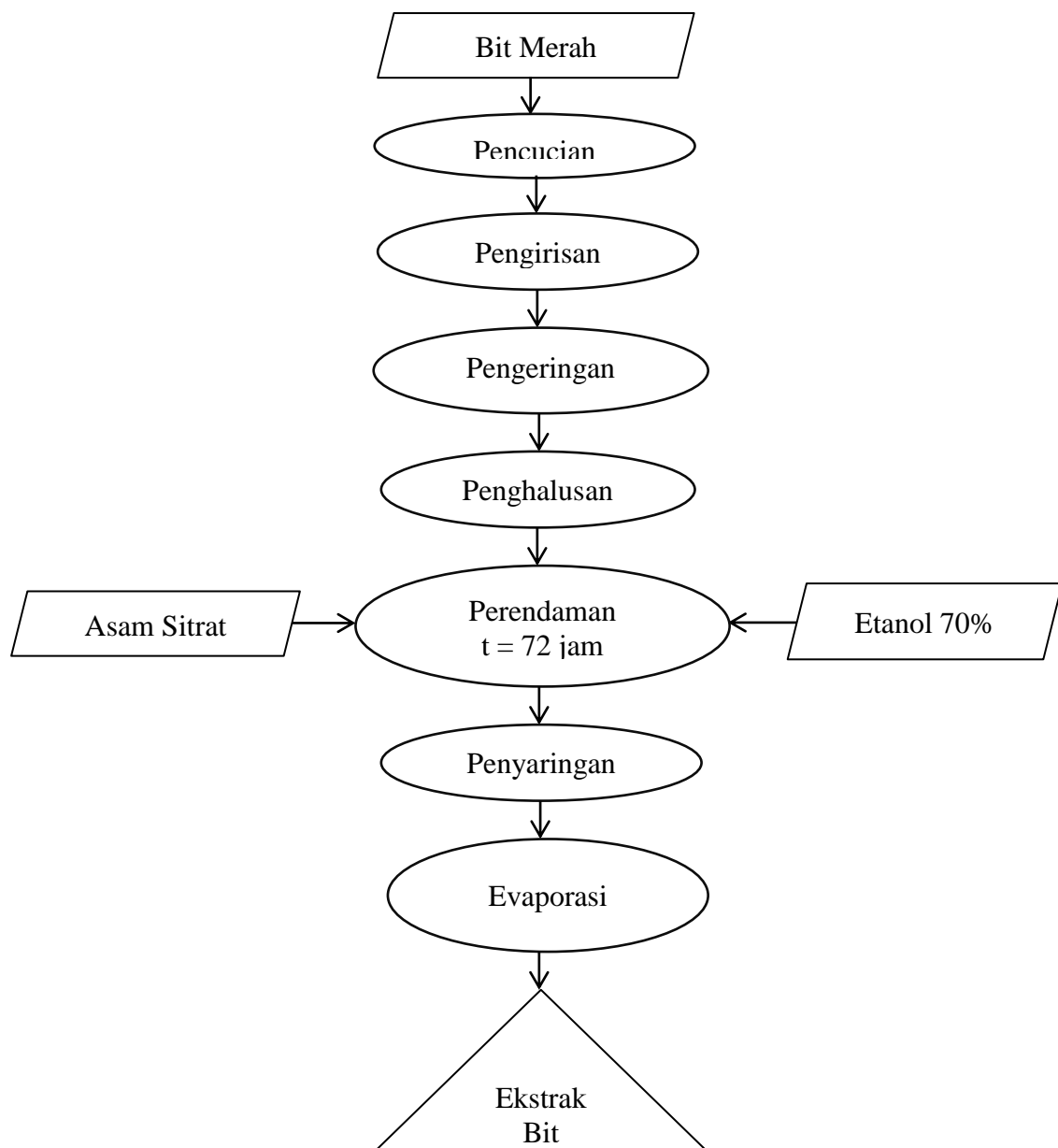
Berat Bahan (%)	Perlakuan				
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
Yoghurt	60	60	60	60	60
<i>Whipping Cream</i>	25	25	25	25	25
Gula Tepung	10	10	10	10	10
Susu Kental Manis	5	5	5	5	5
Ekstrak Bit	0	1	2	3	4

Keterangan : Berat total bahan 200 gram.

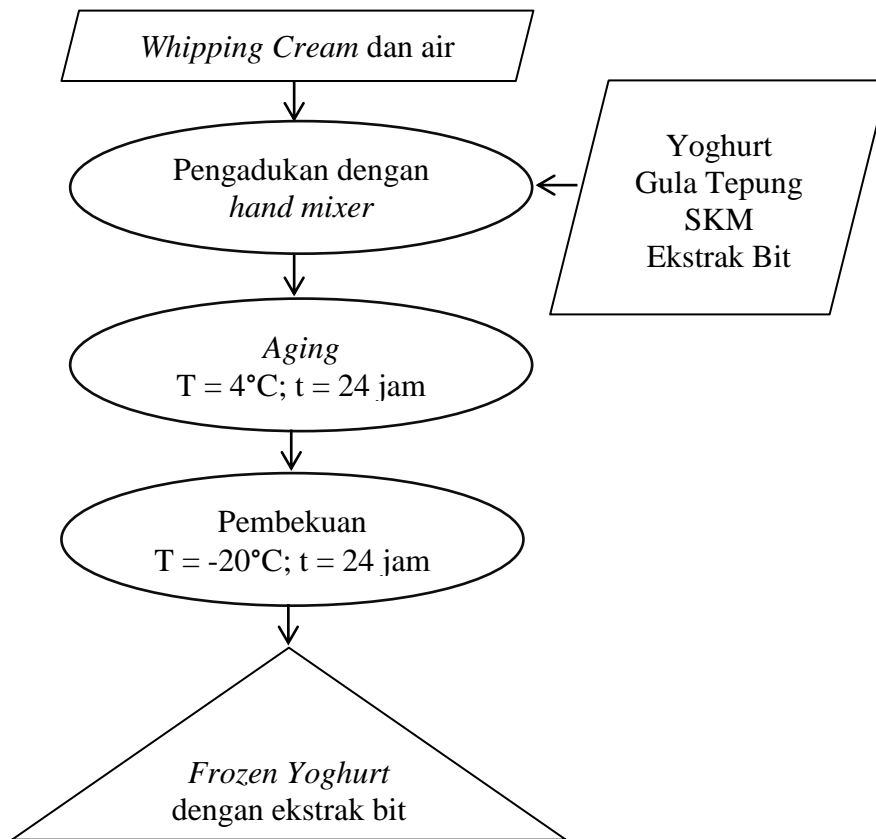
Ekstrak bit ditambahkan berdasarkan presentasi total bahan yang lain.

Tahap pertama *whipping cream* dan air di *mixing* hingga mengembang. *Whipping cream* yang telah mengembang ditimbang sesuai formulasi kemudian diikuti bahan bahan lainnya. Semua bahan kemudian *mixing* selama 10 menit,

dilanjutkan *aging* pada suhu 4°C selama 24 jam, kemudian dilakukan pembekuan pada suhu -20°C selama 24 jam. *Frozen yoghurt* yang telah siap disimpan ke dalam *freezer* untuk persiapan pengujian. Diagram alir proses pembuatan *frozen yoghurt* dapat dilihat pada Ilustrasi 2.



Ilustrasi 1. Diagram Alir Proses Pembuatan Ekstrak Bit



Ilustrasi 2. Diagram alir proses pembuatan *frozen yoghurt*

3.2.3. Parameter Pengujian

a) Analisis *Overrun*

Analisis *overrun* berdasarkan metode Muse dan Hartel (2004). Pengembangan volume froyo dihitung berdasarkan perbedaan berat adonan mula-mula dengan berat froyo pada volume yang sama. Nilai *overrun* dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Overrun} = \frac{\text{berat adonan} - \text{berat frozen yoghurt}}{\text{berat adonan}} \times 100\%$$

b) Analisis Resistensi Pelelehan

Sampel froyo sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam cup dan dibekukan dalam *freezer* selama 24 jam. Setelah 24 jam sampel dari *freezer* diambil dan diletakkan pada suhu kamar kemudian dibiarkan hingga semua sampel meleleh. Berapa menit waktu yang dibutuhkan hingga semua sampel mencair sempurna merupakan resistensi pelelehan dari *frozen yoghurt* (Muse dan Hartel, 2004).

c) Perhitungan Total Asam

Pengukuran total asam dengan menggunakan metode Wahyudi (2006) yang telah dimodifikasi dengan menggunakan metode titrasi yang dinyatakan sebagai persentase asam laktat. Sampel froyo sebanyak 10 gram dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian ditambahkan aquadest hingga tanda tera dan dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Sampel froyo yang telah diencerkan diambil sebanyak 25 ml kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer, dan ditambahkan indikator PP sebanyak 3 tetes kemudian dititrasi menggunakan NaOH 0,1 N. Titrasi dihentikan hingga terjadi perubahan warna menjadi merah muda secara konstan. Perhitungan total asam dapat menggunakan rumus berikut :

$$\text{Total asam tertitrasi (\% asam laktat)} = \frac{V_1 \times N \times B \times FP}{V_2 \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan: V1 = Volume NaOH yang digunakan (ml)

V2 = Volume sampel yang dititrasi (ml)

N = Normalitas NaOH (0,1 N)

B = Berat Molekul Asam Laktat (90)

FP = Faktor Pengenceran

d) Uji Total Padatan

Metode yang digunakan mengacu pada Soedarmadji *et al.* (1984). Total padatan dapat diketahui dengan menguji menggunakan metode oven. Langkah pertama cawan porselin dioven pada suhu 105°C selama 1 jam, kemudian dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit. Berat cawan kemudian ditimbang, lalu sampel ditimbang sebanyak 2 gram dan diletakkan diatas cawan porselin, yang kemudian dioven kembali selama 3 jam pada suhu 105°C hingga diperoleh berat konstan. Kadar air kemudian dihitung dengan menggunakan rumus berikut :

$$\text{Kadar Air} = \frac{B-C}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Berat cawan mula-mula

B = Berat cawan dan sampel sebelum di oven

C = Berat cawan dan sampel setelah di oven

Setelah diketahui kadar airnya, maka total padatan dapat diketahui dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Total Padatan (\%)} = 100\% - \text{Kadar Air (\%)}$$

e) Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan mengacu salah satu metode yaitu dengan 2,2-*diphenyl-1-picrylhydrazil* (DPPH). Pengujian sampel dilakukan dengan cara sampel sebanyak 50, 100, 150, 200 μL dipipet kemudian ditambah dengan metanol 96% sebanyak 150, 100, 50, 0 μL sehingga diperoleh jumlah larutan yang sama yaitu 200 μL , kemudian masing-masing konsentrasi sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang kemudian di vortex, setelah itu ditambahkan DPPH sebanyak 3,8 ml dengan konsentrasi 0,02 mM lalu di vortex kembali. Sampel dibiarkan ditempat gelap selama 1 jam agar metanol dapat bekerja dengan menyerap senyawa aktif pada sampel. Setelah 1 jam sampel diuji dengan spektrometer Uv-Vis pada absorbansi panjang gelombang 515 nm (Andayani *et al.*, 2008). Nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) pada masing-masing konsentrasi sampel ditentukan menurut persamaan regresi linier $y = a + bx$ dimana nilai x merupakan IC_{50} , sedangkan nilai y adalah 50, dengan satuan yang digunakan yaitu ppm (part per milion) (Mun'im *et al.*, 2003). Persamaan regresi linier dapat dilihat pada Lampiran 7.

e) Pengujian Hedonik

Penilaian froyo dilakukan menggunakan pengujian hedonik dengan menggunakan 25 orang panelis. Panelis diminta untuk mencicipi dan memberikan tanggapan pribadinya yang menyatakan tingkat kesukaan panelis terhadap warna, rasa, tekstur aroma dan *overall* kesukaan dari sampel yang disajikan. Pengujian hedonik menggunakan angka 5 skala numerik yaitu tidak suka (1), sedikit suka (2),

cukup suka (3), suka (4), dan sangat suka (5) untuk masing-masing atribut penilaian (Meilgaard *et al.*, 1999).

3.3. Analisis Data

Data hasil pengujian aktivitas antioksidan dijelaskan secara deskriptif. Analisis data total asam, total padatan, *overrun* dan resistensi pelelehan diuji secara statistik menggunakan ANOVA (*Analysis of variance*) pada taraf signifikansi 5% dan apabila terdapat pengaruh, maka dilakukan uji lanjutan menggunakan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) . Parameter uji hedonik dianalisis menggunakan non parametrik *Kruskall-Wallis* dengan taraf signifikansi 5% dan apabila terdapat pengaruh maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Analisis data dihitung dengan bantuan komputer program SPSS 23.0 *for windows*.